



Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC
Centro de Ciências Físicas e Matemáticas – CFM
Departamento de Química – QMC
Disciplina – QMC 5510 – Estágio Supervisionado

Relatório de estágio

Perspectivas para a avaliação qualitativa e quantitativa de Hidrocarbonetos
Policíclicos Aromáticos em sedimentos do Manguezal do Itacorubi através da
técnica de Ressonância Magnética Nuclear de Próton

Acadêmico: Daniel Luís Massaro
Orientador: Prof. Dr. Luiz A. dos Santos Madureira

Florianópolis,
Junho de 2005

“A aparente utopia de um meio ambiente que concilie desenvolvimento associado a sustentabilidade ambiental, qualidade de vida e igualdade social só será alcançada com muita reflexão, boa vontade e esforços pessoal e comunitário”

Pedro Sérgio Fadini e Almerinda Antonia Barbosa Fadini

AGRADECIMENTOS

- Ao pessoal do laboratório: Cristiane, César, PC e Luciano.
- Ao pessoal da central de análises: Ângelo, Eliane e Renato.
- Ao professor e orientador Madureira.
- Aos professores que me ajudaram: Miguel e Iolanda.
- A todos os meus amigos, principalmente o Cristian pela forcinha “extra”
- A Lidi pela paciência, compreensão e pelo “Computador”
- E principalmente meus pais.

RESUMO

A localização dos manguezais é estrategicamente propícia à contaminação, pois se encontram em regiões costeiras e estuarinas, onde recebem uma enorme quantidade de água por diversas vias. Os manguezais podem, portanto, receber poluentes orgânicos, como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), organoclorados e lixo doméstico. Os HPA compreendem uma classe de compostos orgânicos que contêm carbono e hidrogênio combinado em dois ou mais anéis aromáticos condensados provenientes da pirólise ou combustão incompleta da matéria orgânica podendo apresentar características carcinogênicas. Neste trabalho foi avaliada uma faixa de concentração dos compostos pireno e criseno previamente adicionados em uma amostra de sedimento do manguezal do Itacorubi. A partir da análise por ressonância magnética nuclear de próton pôde-se observar uma razão linear entre as concentrações desses dois compostos na faixa de concentração que variou de 800 a 1600 mg L⁻¹. Uma outra parte do estudo teve como objetivo utilizar a técnica de fluorimetria para avaliar a presença de pireno no solvente hexano, após ser utilizado em processos de extração no nosso laboratório. Com o uso dessa técnica foi possível alcançar um limite de detecção da ordem de 1,0 mg L⁻¹.

SUMÁRIO

ÍNDICE DE TABELAS	6
ÍNDICE DE FIGURAS	7
ABREVIACÕES	8
1) INTRODUÇÃO	9
1.1) Manguezais	9
1.2) Manguezal de Itacorubi	10
1.3) Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA)	11
1.4) Cromatografia Gasosa.....	13
1.5) Fluorescência molecular	14
1.6) Ressonância Magnética Nuclear	14
2) JUSTIFICATIVA DO TRABALHO	16
3) OBJETIVOS	17
3.1) Objetivo geral.....	17
3.2) Objetivos específicos	17
4) MATERIAIS E MÉTODOS	18
4.1) Solventes, padrões, adsorventes e reagentes.....	18
4.2) Limpeza da vidraria.....	18
4.3) Coleta das amostras	19
4.4) Análise de CHNS.....	19
4.5) Purificação de hexano em carvão ativado.....	19
4.5.1) Preparação do carvão ativado.....	19
4.5.2) Preparação e extração da coluna.....	19
4.5.3) Análise de Fluorimetria	20
4.6) Análise por Cromatografia Gasosa – Espectrometria de Massas (GC-MS).....	20
4.7) Análise de Ressonância Magnética Nuclear de Próton	21
4.8) Instrumentação.....	21
5) RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5.1) Análise de sedimento.....	23
5.2) Extração do pireno em carvão ativado.....	23
5.3) Análise no Fluorímetro	24
5.4) Análise no Cromatógrafo (GC-MS).....	26
5.5) Análise por Ressonância Magnética Nuclear de Próton.....	28
6) CONCLUSÃO	31
7) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
8) ANEXO	35

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas do criseno e pireno.....	13
Tabela 2 - Origem e pureza dos solventes, padrões e reagentes utilizados....	18
Tabela 3 – Parâmetros para a análise por GC-MS.....	20
Tabela 4 – Concentrações de pireno e criseno para análise de RMN de próton.....	21
Tabela 5 - Análise elementar (CHN) do sedimento do manguezal de Itacorubi.....	23
Tabela 6 – Dados do GC-MS da solução de pireno 10 mg L ⁻¹ com a última fração de hexano após eluição na coluna de carvão ativado.....	27

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Mangue do Itacorubi.....	8
Figura 2 - Nomenclatura e estruturas dos 16 HPA prioritários.....	10
Figura 3 – Espectro de Fluorescência das frações.....	24
Figura 4 – Curva de calibração de pireno em hexano.....	25
Figura 5a – Cromatograma (TIC) de pireno em hexano (10 mg L^{-1}).....	26
Figura 5b – Espectro de massa do pireno.....	26
Figura 6 – Cromatograma (TIC) da última fração de hexano pós-coluna de carvão ativado.....	27
Figura 7 – Razão das áreas de pireno/criseno versus concentração de pireno	28
Figura 8 – Razão das áreas versus razão das concentrações (pireno/criseno).....	29
Figura 9 - Espectro de RMN de próton solução padrão de pireno	32
Figura 10 – Espectro de RMN de próton do criseno	32

ABREVIATÓES

HPA – Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

EPA – Agência de Proteção ao Meio Ambiente dos EUA

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

GC – Cromatografia Gasosa

GC-MS – Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massa

PA – Padrão Analítico

HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CHNS – Análise de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre

TIC – Cromatograma de íons totais

1) INTRODUÇÃO

1.1) Manguezais

Os manguezais ocupam uma área de aproximadamente 170.000 km² no planeta, onde encontram-se cerca de 60 espécies endêmicas de árvores e arbustos. ⁽¹⁾

No Brasil, os manguezais ocupam uma área geográfica de aproximadamente 14.000 km², porém esta estimativa pode estar reduzida devido aos constantes desmatamentos e aterros. ⁽²⁾ No estado de Santa Catarina a área que corresponde aos manguezais é de 175 km², abrangendo 20 % da costa litorânea, sendo este Estado, o limite austral desses ecossistemas. ⁽³⁾

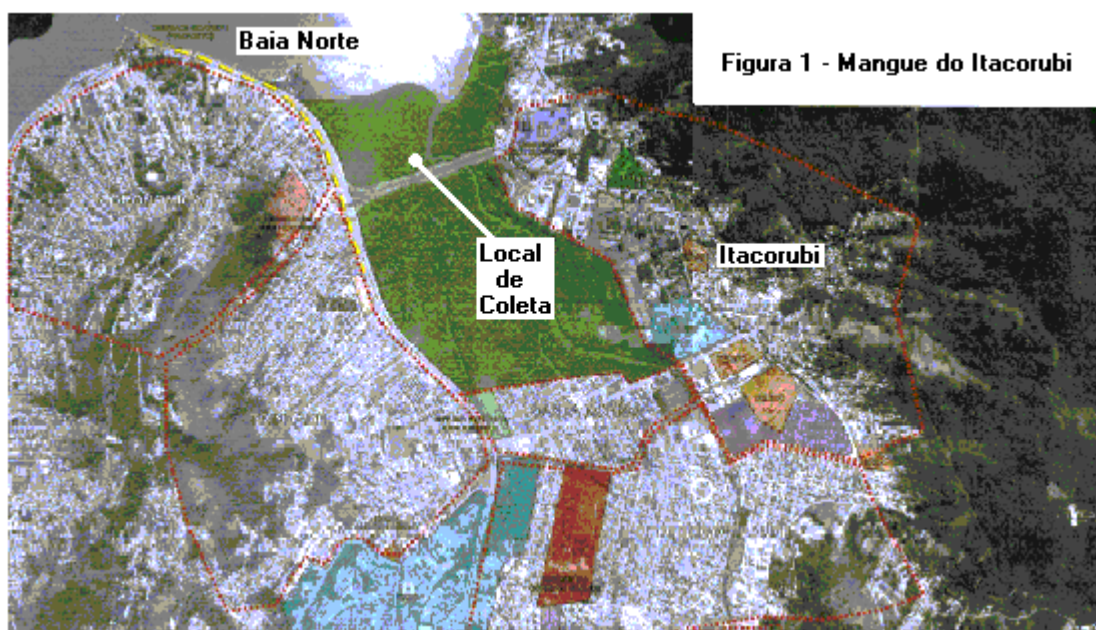
Os manguezais são sistemas ecológicos característicos de zonas tropicais e de ambientes de regiões litorâneas. Localizam-se dentro de áreas costeiras onde ocorre o encontro de águas continentais e marinhas, sob a oscilação de maré. ⁽⁴⁾

Os manguezais são importantes na proteção das regiões costeiras, pois formam uma barreira impedindo a erosão, fornecem habitat para as mais variadas vidas selvagens (pássaros, crustáceos, etc) e constituem um excelente filtro biológico para águas provenientes dos mais diversos meios. ⁽⁵⁾ Por causa da sua localização são classificados como um dos ambientes mais críticos para acidentes envolvendo derramamento de óleo ⁽⁶⁾, pois são suscetíveis à contaminação tanto terrestre como marítima.

Os manguezais podem receber poluentes orgânicos de origem antropogênica, como HPA e organoclorados, e metálicos provindo do continente através dos rios, lagoas e marinhos através das correntes marítimas e das variações das marés.

1.2) Manguezal de Itacorubi

O manguezal de Itacorubi localiza-se no estado de Santa Catarina na ilha de Florianópolis, banhado pelas águas da Baía Norte, entre as coordenadas 27°34'14" – 27°35'31" LS e 48°30'07" – 48°31'33" LO, possuindo uma área de 1,42 km² representada (na Figura 1). O manguezal é recortado por dois cursos d'água, o rio Itacorubi e seu afluente, o rio Sertão, hoje em dia altamente desconfigurado devido a construção de aterros e canais. O bosque do mangue está circundado por bairros da grande Florianópolis, é atravessado pela rodovia SC-401 que liga o centro às praias do Norte de Florianópolis e é cortado por vários canais do DNOS (Departamento Nacional de Obras e Saneamento). ⁽⁷⁾



1.3) Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA)

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) constituem uma classe de compostos orgânicos, provenientes de combustíveis fósseis, da pirólise ou combustão incompleta da matéria orgânica. ⁽⁸⁾

Os HPA encontrados em amostras ambientais podem ser de origem biogênica (fontes naturais) ou antropogênica (introduzidos pelo homem). As fontes biogênicas incluem processos de biossíntese, degradação a longo prazo da matéria orgânica, combustão natural de florestas e exsudação natural de petróleo. As principais fontes antropogênicas estão relacionadas a derrames de óleos ou derivados e a combustão incompleta de combustíveis fósseis. ⁽⁹⁻¹³⁾

A incidência elevada dos HPA na natureza, associada à toxidez e ao poder carcinogênico de vários destes compostos e ao fato de alguns deles serem resistentes à biodegradação, determinam, a nível mundial, a inclusão destes compostos na lista dos contaminantes orgânicos prioritários. ⁽¹⁴⁻¹⁶⁾

A Environmental Protection Agency (EPA), órgão que regulamenta a proteção do meio ambiente dos Estados Unidos, estabeleceu uma lista de 16 HPA considerados prioritários para monitoramento ambiental, em função de sua carcinogenicidade e ocorrência (Figura 2).

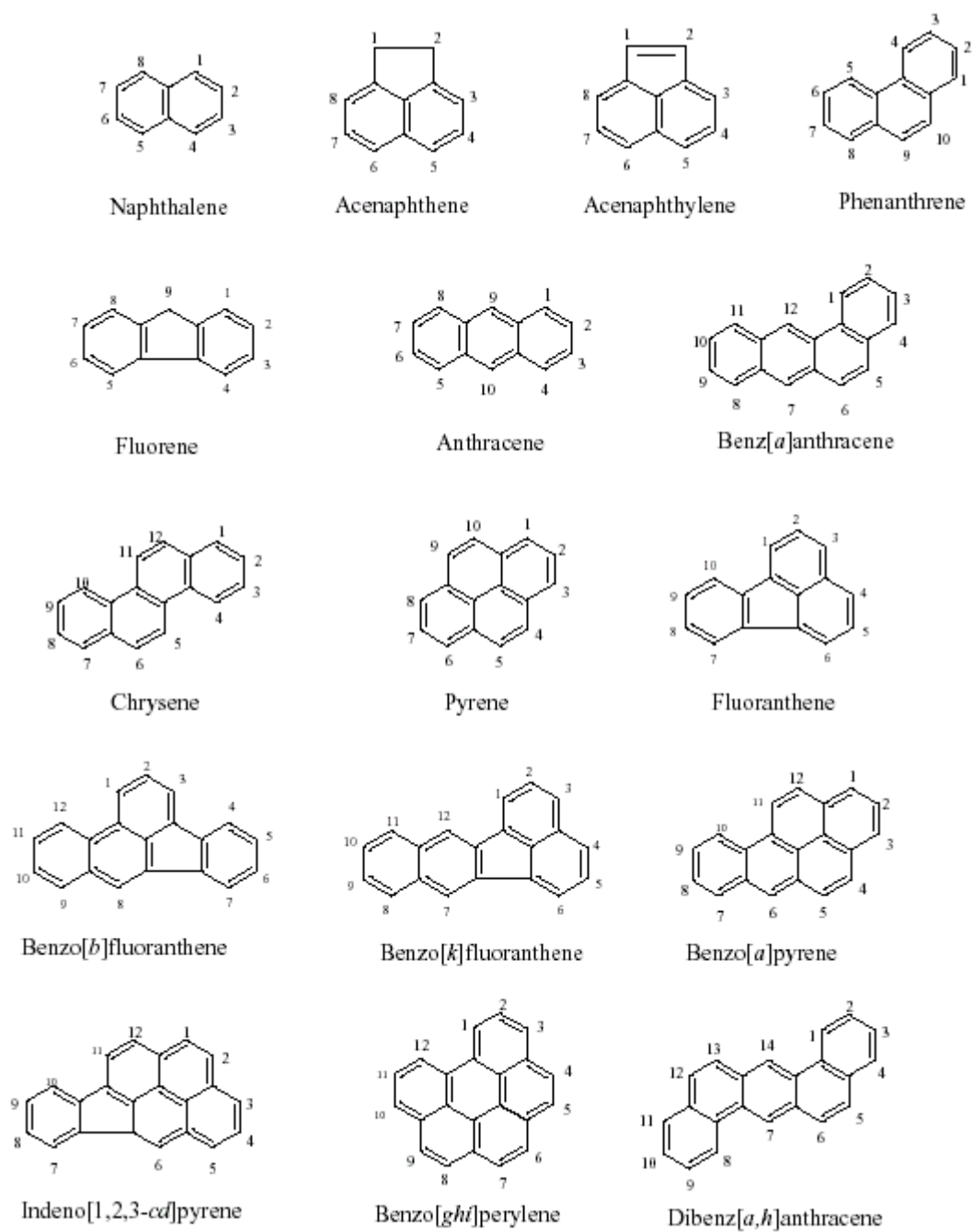


Figura 2 - Nomenclatura e estruturas dos 16 HPA prioritários.

Dentre os HPA apresentados, será estudado neste trabalho o criseno e pireno. A escolha destes dois HPA é devido a toxicidade baixa em relação aos 16 apresentados na Figura 2.

As propriedades físico-químicas dos HPA envolvidos no trabalho estão apresentadas na (Tabela 1):

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas do criseno e pireno.

Propriedades	Criseno	Pireno
Fórmula Molecular	C ₁₈ H ₁₂	C ₁₆ H ₁₀
Massa Molecular (g mol ⁻¹)	228,3	202,3
Número de anéis	4	4
PF (° C)	255	149
PE (° C)	-	360
Solubilidade em água (mg L ⁻¹)	2 . 10 ⁻³	1,4 . 10 ⁻¹

1.4) Cromatografia Gasosa

Cromatografia Gasosa compreende um grupo diversificado e importante de métodos que permitem a separação de componentes presentes em misturas complexas.

A amostra é injetada e vaporizada topo de uma coluna cromatográfica. A eluição é feita pelo arraste de um gás inerte que atua como fase móvel. Ao contrário da maioria dos outros tipos de cromatografia, a fase móvel não interage com as moléculas do analito, sua função é apenas transportar o analito através da coluna.

A cromatografia gasosa é uma técnica amplamente empregada na avaliação da pureza de compostos orgânicos. Contaminantes, se presentes, são revelados pelo aspecto de picos adicionais. As áreas sob esses picos permitem a identificação e quantificação dessa contaminação.¹⁷

1.5) Fluorescência molecular

A fluorescência molecular, juntamente com a fosforescência e quimiluminescência, caracterizam um grupo de técnicas chamadas luminescentes. Estas técnicas estão fundamentadas nos fenômenos que ocorrem quando uma molécula, após sofrer excitação, retorna ao seu estado fundamental, produzindo um espectro característico. A análise quantitativa pode ser realizada com as intensidades e frequência de emissão presentes nestes espectros e a análise qualitativa é dada pelo perfil do espectro observando o comprimento de onda onde a substância absorve energia.⁽¹⁸⁾

A fluorimetria se baseia na absorção de um fóton pelo grupo fluoróforo para promover uma molécula a um estado excitado, diferenciando-se entre si apenas quanto à natureza das transições eletrônicas, onde na fluorescência, estas transições ocorrem sem envolver a alteração de spins dos elétrons. A intensidade de fluorescência I_F é diretamente proporcional à intensidade do feixe de excitação (I_0), à absorbância (ϵbc , onde ϵ é a absorvidade molar, b é o comprimento percorrido pelo feixe na amostra e c , a concentração da espécie fluorescente) e ao rendimento quântico (Φ_F) da espécie, definidos pela equação 1:⁽¹⁸⁾

$$I_F = K_F I_0 \Phi_F \epsilon bc \quad (\text{Equação 1})$$

Onde a constante de proporcionalidade K_F é uma função da resposta instrumental e outros parâmetros instrumentais.⁽¹⁸⁾

1.6) Ressonância Magnética Nuclear

A espectrometria de ressonância magnética nuclear (RMN) é uma forma de espectrometria de absorção, semelhante à espectrometria no infravermelho ou no ultra violeta. Sob condições apropriadas, uma amostra pode absorver radiação eletromagnética na região de radiofrequência (rf) em frequências específicas conforme as características estruturais da amostra.

Moléculas que tenham núcleo de número atômico ou massa ímpar, tal como hidrogênio simples ^1H e de carbono-13 (^{13}C), possuem spin nuclear quantizado que por estar associado a um campo magnético, comportam-se como barras magnéticas. Quando essas moléculas são submetidas a um determinado campo magnético externo, ocorrerá uma interação quantizada entre o spin nuclear e o campo magnético aplicado. Como resultados, tais núcleos entram em precessão a frequências específicas que dependem da estrutura molecular. Ao aplicar, então, uma radiofrequência na mesma frequência de precessão dos núcleos, esta é absorvida ocorrendo o fenômeno da ressonância

Numa dada molécula, por exemplo, os núcleos de hidrogênio podem estar em regiões de maior ou menor densidade eletrônica, e em consequência disso os núcleos (prótons) absorvem energia em diferentes frequências com campo magnético mantido constante. Conseqüentemente, os sinais para tais prótons ocorrerão em diferentes posições no espectro de RMN; diz-se que eles possuem diferentes “deslocamentos químicos”. A força de campo real, na qual a absorção ocorre (o deslocamento químico), depende muito do ambiente magnético de cada próton. Esse ambiente magnético depende de dois fatores: os campos magnéticos gerados por elétrons circulantes e os campos magnéticos que resultam de outros prótons vizinhos (ou outros núcleos magnéticos). ⁽¹⁹⁾

A magnitude relativa dos sinais é muito importante no assinalamento de grupos particulares de átomos de hidrogênio. Porém, o que importa não é necessariamente a altura de cada pico, mas a área abaixo deles. Quando medidas com exatidão, estas áreas estão na mesma proporção do número de hidrogênios responsáveis por cada sinal do espectro. ⁽²⁰⁾

A técnica de RMN apresenta vantagens frente às outras técnicas qualitativas como, a espectrometria de infravermelho, ultravioleta e a técnicas quantitativas, como a cromatografia líquida e gasosa, como a rapidez da análise (segundos ou minutos) e a não destruição da amostra (a análise pode ser repetida na mesma amostra). ⁽²¹⁾

2) JUSTIFICATIVA DO TRABALHO

Os sistemas costeiros de manguezais são locais estratégicos para a recepção dos mais variados compostos orgânicos, tanto de origem biogênica como antropogênica, pelos meios de transportes naturais como ventos, rios, chuvas ou através de fluxo das marés. Hoje em dia tem-se observado um aumento na produção de petróleo e na demanda mundial deste produto (10,8 bilhões de litros de petróleo são consumidos diariamente), sendo que cerca de 31,5 bilhões de galões (119,7 bilhões de litros) estão sendo transportados nos oceanos, aumentando o risco de ocorrer episódios envolvendo derramamentos de petróleo no mar, que eventualmente podem atingir os ambientes costeiros de manguezais.⁽²²⁾

O trabalho realizado se propõe a avaliar a viabilidade de se aplicar a técnica de RMN de próton para a determinação qualitativa e quantitativa de HPA (totais) presentes em água, sedimento e biota, a fim de buscar uma alternativa mais rápida e que não utilize solventes tóxicos para a determinação desses compostos em amostras naturais. Para iniciar esse estudo foram utilizados dois HPA, criseno e pireno, que se encontram na lista dos 16 HPA prioritários estabelecidos pela Agência Americana de Proteção ao Meio Ambiente (EPA).

3) OBJETIVOS

3.1) Objetivo geral

Estudar a viabilidade de se utilizar a técnica de Ressonância Magnética Nuclear de Próton na determinação de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos em sedimentos de manguezais.

3.2) Objetivos específicos

Avaliar qualitativamente a presença dos padrões pireno e criseno introduzidos em sedimentos superficiais (até 10 cm de profundidade) provenientes do manguezal do Itacorubi, através da técnica de Ressonância Magnética Nuclear de Próton.

Avaliar a eficiência do tratamento do solvente hexano utilizado no laboratório de Geoquímica Orgânica na extração de HPA com carvão ativado através da técnica de fluorimetria.

4) MATERIAIS E MÉTODOS

4.1) Solventes, padrões, adsorventes e reagentes

Tabela 2 - Origem e pureza dos solventes, padrões e reagentes utilizados

Solventes, padrões e reagentes	Fabricante	Pureza
Hidróxido de potássio	Nuclear	Analítico
Pireno	Sigma	Cromatografia
Criseno	Sigma	Cromatografia
Ácido Clorídrico	Vetec	P.A.
Carvão Ativo	Merk	GC
Hexano	Carlo Erba	P.A.
Clorofórmio	Nuclear	P.A.
Sulfato de sódio anidro	Nuclear	P.A.
Dimetilsulfóxido (DMSO)	Vetec	HPLC

4.2) Limpeza da vidraria

A vidraria utilizada foi lavada com detergente, enxaguada com água corrente em abundância e imersa em uma solução hidroalcoólica preparada a partir de 100 g de hidróxido de potássio em 1 L de solução etanol-água destilada (9:1). Em seguida os vidros foram enxaguados com água e água destilada, respectivamente, e seco na mufla a uma temperatura de 450° C durante quatro horas.

Os tubos utilizados para a análise de RMN de próton foram limpos com a solução hidroalcoólica descrita acima, porém não foram secos em mufla.

4.3) Coleta das amostras

O ponto escolhido no manguezal do Itacorubi está indicado na Figura 1, sendo este estratégico pelo fácil acesso.

Os sedimentos foram coletados até uma profundidade de 10 cm em uma superfície isenta de folhas com o auxílio de um amostrador do tipo Van-Veen e transferidos para vidros previamente limpos com a precaução de envolver as mãos com luvas de polietileno.

4.4) Análise de CHNS

Foram colocados 0,5 mL de ácido clorídrico 0,1 mol L⁻¹ em 20 mg da amostra de sedimento, para a retirada de carbono proveniente de carbonatos. A amostra foi centrifugada e seca em estufa a 60°C durante 2 horas.

4.5) Purificação de hexano em carvão ativado

4.5.1) Preparação do carvão ativado

Dez gramas de carvão ativado foram tratados com 100 mL de ácido clorídrico 3 mol L⁻¹ e aquecido por 20 minutos numa temperatura de 60°C. Em seguida lavou-se com água deionizada por três vezes e secagem em estufa a 60° C. ⁽²³⁾

4.5.2) Preparação e extração da coluna

Foi preparada uma coluna contendo 2,0 g de carvão ativado (60 mm), na qual o carvão ativado foi colocado sobre uma camada de 5 mm de sulfato de sódio anidro e lã de vidro. Uma camada de 5 mm de sulfato de sódio anidro também foi colocada no topo da coluna para evitar segregação do adsorvente (o sulfato de sódio foi previamente aquecido a 400° C por 4 horas ⁽²⁴⁾).

Passaram-se cinco frações de 100 mL cada de solução de hexano contaminado com pireno, com um tempo de aproximadamente 20 minutos por fração, sendo então coletadas em frascos para a análise de fluorimetria.

4.5.3) Análise de Fluorimetria

Para a curva de calibração foram preparadas soluções de pireno em hexano nas concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50 mg L⁻¹. Em seguida mediu-se o espectro da absorbância no fluorímetro entre os comprimentos de onda 360 e 440 nm.

De cada uma das cinco frações eluídas da coluna de carvão ativado foram retiradas alíquotas para posteriormente medir o espectro da absorbância no fluorímetro.

4.6) Análise por Cromatografia Gasosa – Espectrometria de Massas (GC-MS)

A quinta e última fração que passou pela coluna de carvão ativado foi concentrada por evaporação (de 100 mL para 5 mL) e separada para análise por GC-MS. Também preparou-se uma solução de 10 mg L⁻¹ de pireno para ser injetada e comparada com a quinta fração. Os parâmetros utilizados nas duas análises estão indicados na Tabela 3.

Tabela 3 – Parâmetros para análise por GC-MS

Tempo de “Splitless”	1,0 min
Fluxo do gás carregador (He)	1,0 mL min ⁻¹
Temperatura inicial do forno	50° C
Taxa de aquecimento entre 50 e 310° C	10° C min ⁻¹
Tempo de isoterma a 310° C	5 min
Temperatura do injetor	290° C
Temperatura do detector	310° C
Quantidade de amostra injetada	1,0 µL
Modo de Ionização	IE (70eV)
Variação de massa/carga	40 – 450

4.7) Análise de Ressonância Magnética Nuclear de Próton

Soluções contendo os HPA pireno e criseno, utilizando o solvente dimetilsufóxido (DMSO), foram preparadas nas concentrações indicadas na Tabela 4 para serem analisadas pela técnica de ressonância magnética nuclear de próton.

Tabela 4 – Concentrações de pireno e criseno para análise de RMN de próton

Soluções	Concentração mg L⁻¹	
	Pireno	Criseno
1	800	1200
2	1000	1200
3	1200	1200
4	1400	1200
5	1600	1200

A temperatura utilizada nesta análise foi de 25° C, o tempo de relaxação foi 1.000 segundos com um pulso de 45 graus na frequência de 400 Mhz.

4.8) Instrumentação

Os sedimentos foram liofilizados em um liofilizador EDWARDS MICROMODULYO 15k acoplado à bomba EDWARDS – E2M2, depois peneirado em uma peneira de graduação 0,250 Mesh para retirada da areia grossa e pequenos gravetos.

As amostras de sedimento foram pesados em uma balança analítica METLER – H80 (precisão $\pm 0,5$ mg). Os padrões foram preparados com o auxílio de uma balança analítica METLER TOLEDO – AT21 (precisão $\pm 0,005$ mg).

O fluorímetro utilizado para a análise das frações de hexano contaminado com pireno foi LS – 5B Luminescence Spectrometer da marca PERKIN – ELMER.

Nas análises cromatográficas utilizou-se um GC-MS modelo GC-17A, com uma coluna capilar DBI de 30,0 metros de comprimento, espessura do filme de fase estacionária de 0,25 μm e diâmetro interno de 0,25 mm, acoplado a um espectrômetro de massas modelo QP5050 da Shimadzu. O gás de arraste utilizado foi o hélio.

O aparelho de ressonância magnética nuclear utilizado foi NMR AS 400 da marca VARIAN, equipado com o magneto do tipo probe Oxford.

5) RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1) Análise de sedimento

Uma alíquota de sedimento foi submetida à análise elementar (CHNS) com o objetivo de se obter informações sobre os teores de carbono orgânico, nitrogênio total, enxofre e hidrogênio (Tabela 5). Os valores obtidos são compatíveis com o resultados apresentados por outros autores para sedimentos de manguezais.

Tabela 5 - Análise elementar (CHNS) do sedimento do manguezal de Itacorubi.

	Carbono	Hidrogênio	Nitrogênio	Enxofre
%	4,06	1,28	0,38	0,94

5.2) Extração do pireno em carvão ativado

O volume de solvente purificado foi de 500 mL divididos em cinco frações de 100 mL, onde se observa, através de análises de fluorimetria e cromatografia, a ausência do HPA pireno no hexano proveniente de soluções utilizadas em análises qualitativa e quantitativa de pireno por cromatografia gasosa.

5.3) Análise no Fluorímetro

O resultado da análise por fluorescência indicou que a coluna de carvão ativado foi eficiente na adsorção do padrão pireno nas cinco frações analisadas (Figura 3).

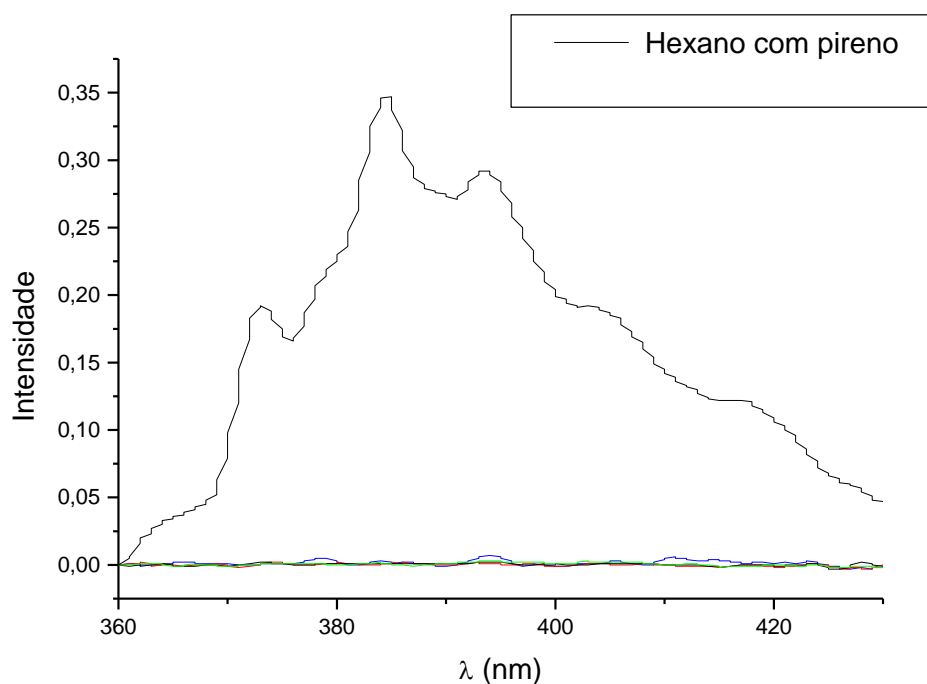


Figura 3 – Espectro de Fluorescência das frações

O espectro representa as frações que passaram pela coluna de carvão ativado e a solução de hexano contaminada com pireno. Observa-se que o pico máximo característico do pireno (comprimento de onda 384,58 nm) apresenta uma intensidade de 0,3469. Através da curva de calibração (Figura 4), obteve-se a concentração do pireno na solução de hexano contaminado.

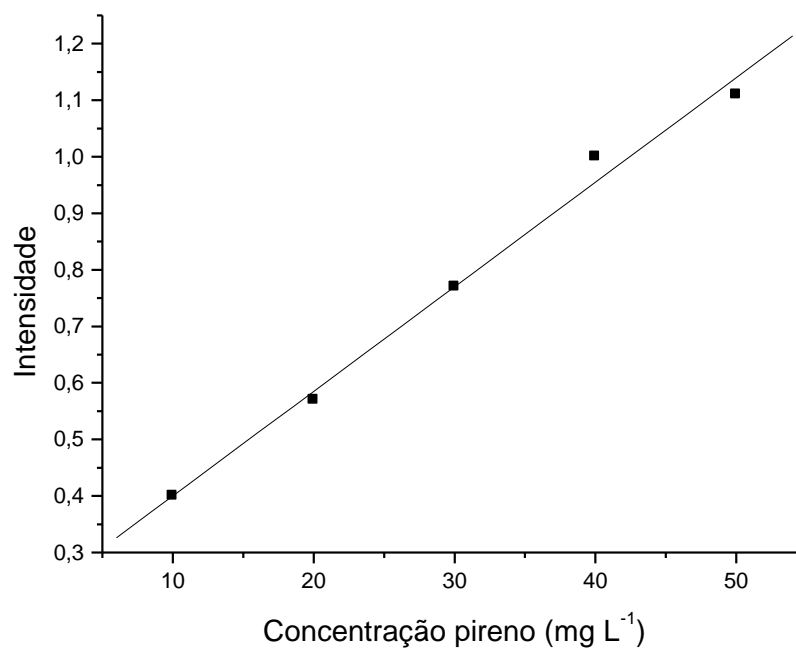


Figura 4 – Curva de calibração de pireno em hexano ($R=0,998$)

A equação da reta (Equação 2) encontrada foi a seguinte:

$$\text{Intensidade} = 0,215 + 0,0185 [\text{pireno}] \quad \text{Equação 2}$$

A intensidade do pico no comprimento de onda de 384,58 nm foi utilizada para obter as intensidades das soluções padrões para a construção da curva de calibração. Na amostra de hexano contaminada de pireno obteve-se uma intensidade de 0,3467, onde se determinou a concentração de 7,12 mg L⁻¹.

5.4) Análise no Cromatógrafo (GC-MS)

Foi preparada e injetada no cromatógrafo uma solução padrão de pireno de concentração 10 mg L^{-1} para uma análise qualitativa, onde se observa no cromatograma (Figura 5a) um pico em torno de 22 minutos, o que representa a presença do pireno através do espectro de massa (Figura 5b), e também uma impureza na faixa de 19 minutos.

Após esta análise, injetou-se a solução da última fração retirada da coluna de carvão ativado do solvente hexano (Figura 6) para a comparação desta última fração com a solução padrão de pireno.

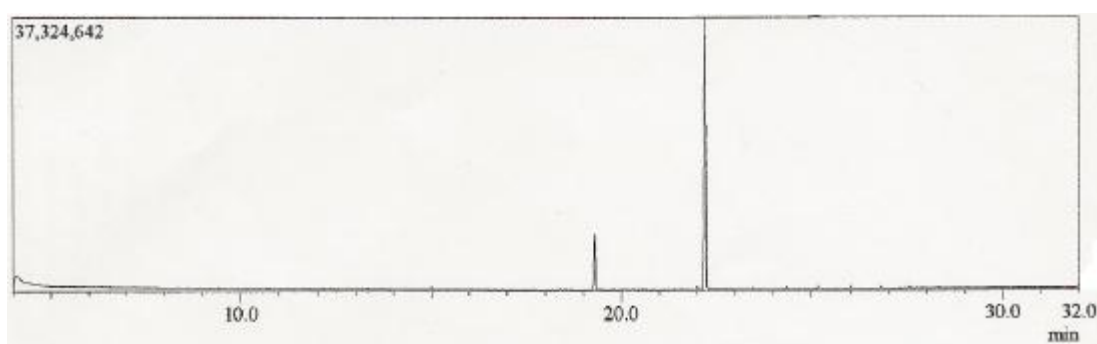


Figura 5a – Cromatograma (TIC) de pireno em hexano(10 mg L^{-1}).

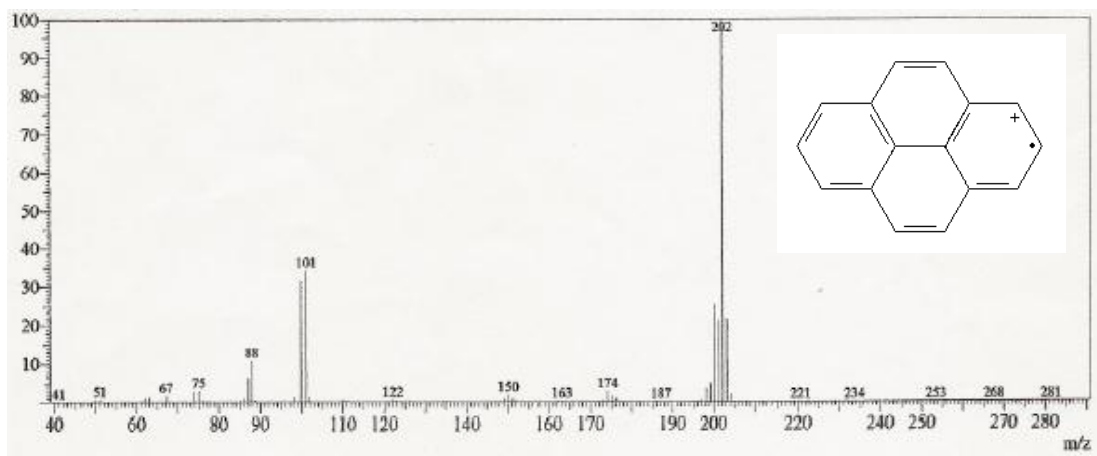


Figura 5b – Espectro de massa do pireno.

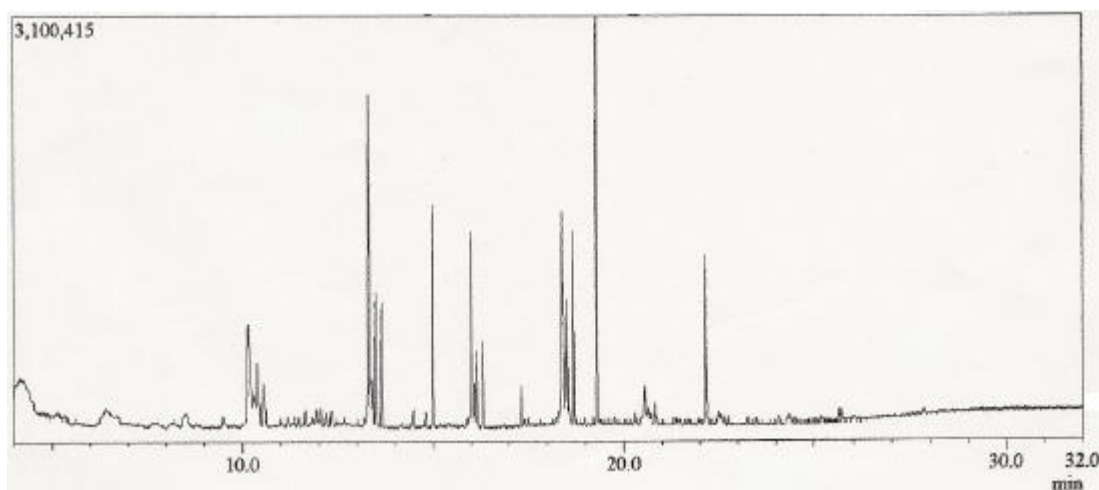


Figura 6 – Cromatograma (TIC) da última fração de hexano pós-coluna de carvão ativado.

Na última fração de hexano, observa-se o pico do pireno em aproximadamente 22 minutos, porém em menor intensidade. Utilizando-se as áreas dos dois picos, poderemos comparar as suas concentrações e determinar a concentração de pireno eluída através da coluna de carvão ativado (Tabela 6). Também podemos observar vários outros picos de possíveis interferentes na última fração de hexano comparando a solução padrão de pireno.

Tabela 6 – Dados do GC-MS da solução de pireno 10 mg L⁻¹ e da última fração de hexano após eluição na coluna de carvão ativado

Solução	Área (pico do pireno)	Concentração (mg L ⁻¹)
Padrão Pireno	109.864.229	10,0
Última fração da coluna	2.660.722	0,24

Com a concentração obtida de pireno presente no solvente analisado através da técnica de fluorimetria, que foi de 7,12 mg L⁻¹, podemos achar a porcentagem de pireno que foi retido na coluna de carvão ativado, já que a concentração de pireno na última fração foi de 0,24 mg L⁻¹.

Quantidade de pireno retido na coluna de carvão ativado: 96,6 %.

5.5) Análise por Ressonância Magnética Nuclear de Próton

A técnica de RMN de próton deveria ser avaliada, neste trabalho, da seguinte maneira: análise de HPA (pireno e criseno) direta do sedimento em forma sólida, evitando assim a utilização de solventes tóxicos, como também a contaminação destes por HPA. Porém a análise sólida não pode ser executada no aparelho disponível na universidade.

A outra maneira de avaliar o método foi o de construir uma curva, (Figura 7 e Figura 8) com razões das áreas dos picos característicos versus as razões das concentrações dos dois HPA (pireno/criseno), sendo que a concentração do criseno foi mantida constante. Os espectros de RMN de próton se encontram em (Anexo).

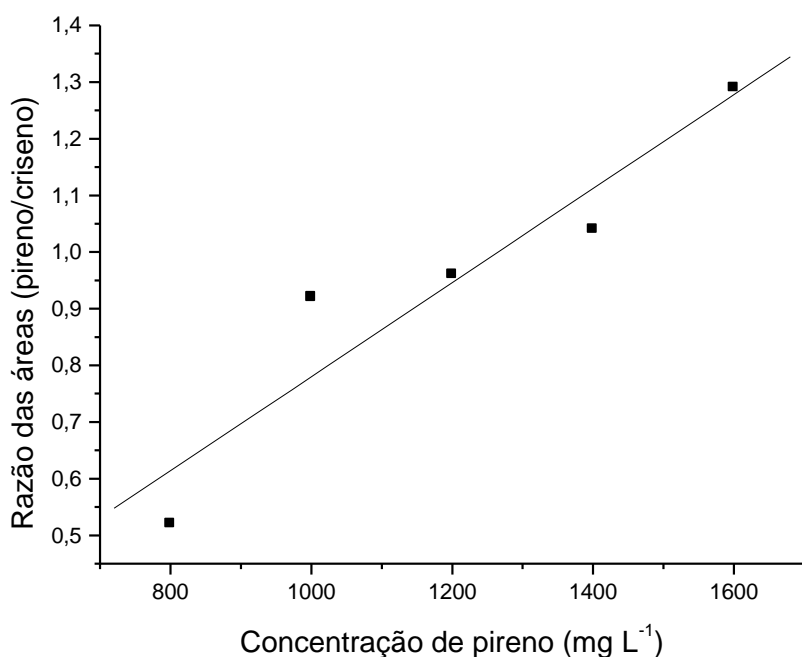


Figura 7 – Razão das áreas de pireno/criseno versus concentração de pireno
(R=0,943)

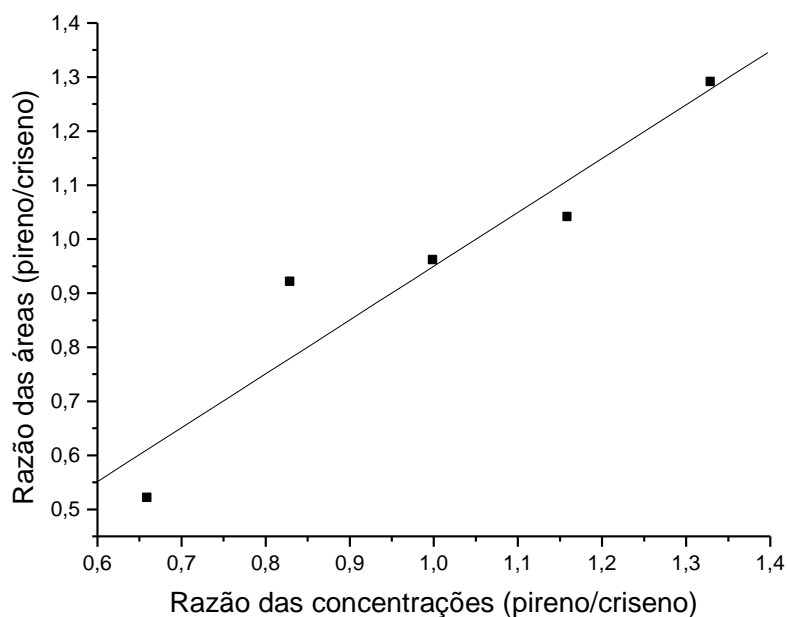


Figura 8 – Razão das áreas versus razão das concentrações (pireno/criseno) ($R=0,945$)

Os sinais característicos foram atribuídos através de uma análise dos tipos de hidrogênios encontrados nas moléculas descritos por uma análise de RMN de próton para uma solução padrão de pireno (Figura 9) e de um espectro teórico do pireno.

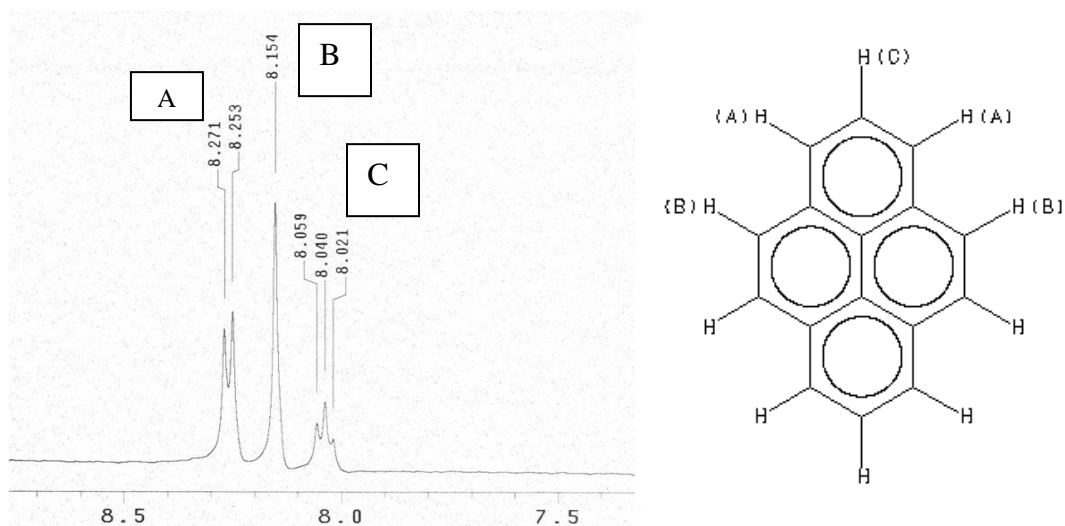


Figura 9 – Espectro de RMN de próton solução padrão de pireno

Os hidrogênios apresentam:

A – sinal em 8,262 (duplete) com $J = 7,2$ (constante de acoplamento)

B – sinal em 8,154 (singleto)

C – sinal em 8,040 (triplete) com $J = 7,6$ para os dois tipos de hidrogênio que está acoplado (acoplamento orto)

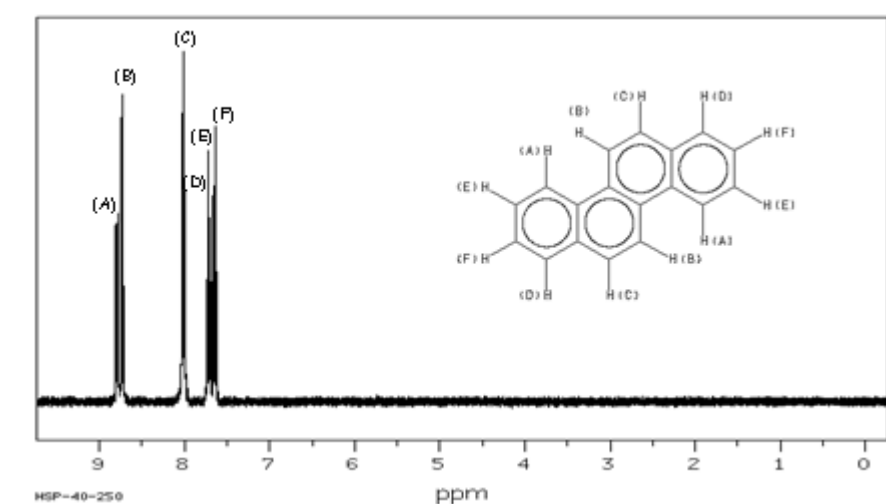


Figura 10 – Espectro de RMN de próton do criseno

Como o sinal mais característico do pireno é o de 8,154, pois é um singleto, utilizou-se para relacionar sua área com a área de um sinal característico do criseno. Para o criseno, utilizamos a área dos hidrogênios A e B, que são encontrados em 8,935 e 8,881.

Os espectros de RMN de próton das cinco soluções estão em (Anexo).

O solvente escolhido para a solubilização dos HPA foi o dimetilsulfóxido (DMSO), devido a necessidade de possuir o mesmo solvente da forma deuterada. Houve uma tentativa com o clorofórmio, porém seu pico característico é bem próximo a região dos HPA. Considerando que a concentração utilizada dos HPA foi baixa ($100 - 500 \text{ mg L}^{-1}$), não foi possível identificar alguns sinais necessários para o cálculo das áreas.

6) CONCLUSÃO

Foi possível fazer uma determinação, por ressonância magnética nuclear, dos compostos pireno e criseno ($800 - 1600 \text{ mg L}^{-1}$) no solvente DMSO, através de gráficos utilizando-se as razões de suas concentrações. Esses valores são extremamente altos, em relação ao máximo permitido para HPA em sedimentos ($< 10 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$), o que demonstra uma limitação do método para determinação desses compostos em amostras de sedimento.

A coluna de carvão ativado utilizada teve uma eficiência de 96,6 % na retenção do pireno em hexano, que foi determinado somente por GC-MS. Esta não retenção total do pireno pode ser justificada pela saturação do carvão ativado. Portanto, haveria necessidade de se aumentar o tamanho do recheio da coluna ou a diminuir o volume de solvente a ser purificado na mesma coluna nas próximas extrações de pireno.

A técnica de fluorimetria mostrou-se menos sensível à presença do pireno no solvente hexano, com um limite de detecção ($1,0 \text{ mg L}^{-1}$) que foi cerca de dez vezes superior ao obtido no GC-MS, cujo valor foi da ordem de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$.

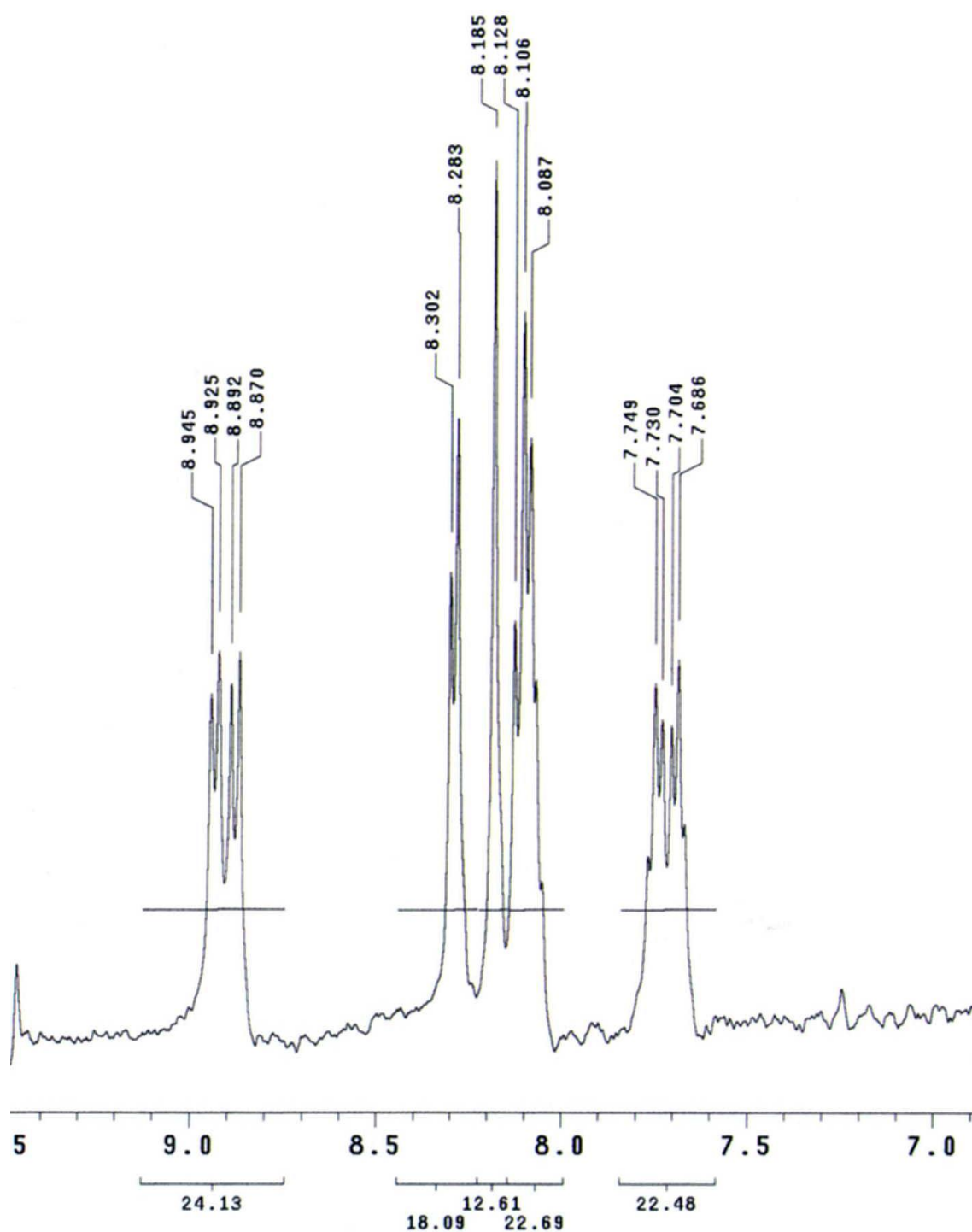
7) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. KUENZLER, E J.. *Mangrove Swamps Systems. Coastal Ecological Systems of the United States, The Conservation Foundation*, B. J. Copeland, Edited by B. J. Copeland and E. A. MacMahon, V 1, 1974, p 346-372.
2. KJERFVE, B. *Mangroves of Brazil. Conservation and sustainable utilization of forest in Latin America and Africa regions. Part 1 – Latin America.* Lacerda, L. D., Ed.; ITTO/Internacional Society for Mangrove Ecosystems, 1993, p 245-272.
3. SIERRA de LEDO, B.; SORIANO SIERRA, E. J. *Mangrove swamps and coastal lagoons: uses and stressors.* Proc. 4th Symp. On coastal and management “Coastal zone 85”, ASCE, Baltimore, V 1, 1985, p 1170-1178.
4. ODUM, W. E.; HEALD, E. J. *Mangrove forest and aquatic productivity.* Cap 5. In: Na introduction to land-water interactions. Springer Verlag. Ecological Studies Series, New York, 1985.
5. FLORES – VERDUGO, F. J.; FARIAS – GONZÁLES, M.; BLANCO – CORREA; PASTÉN – NUÑES. *The Teacapan – Água Brava – Marismas Nacionales mangrove ecosystem on Pacific coast of Mexico. Mangrove Ecosystems Studies in Latin American and Africa*, Edited by Björn Kjerfve, Luiz Drude de Lacerda and El Hadji Salif Diop, 1997, p 35-46.
6. GUNDLACH, E. R. & HAYES, M. O. *Classification of coastal environments in terms of potential vulnerability to oil spill impact.* Marine Technology/Society Journal, 12, 1978, p 18-27.
7. SORIANO – SIERRA. *Estrutura do mosaico ambiental no manguezal de Itacorubi (Ilha de Santa Catarina, SC, Brasil).* Ecologia e gerenciamento do manguezal de Itacorubi. Editado por Eduardo Soriano – Sierra e Blanca Sierra de Ledo, 1998, p 47-78.

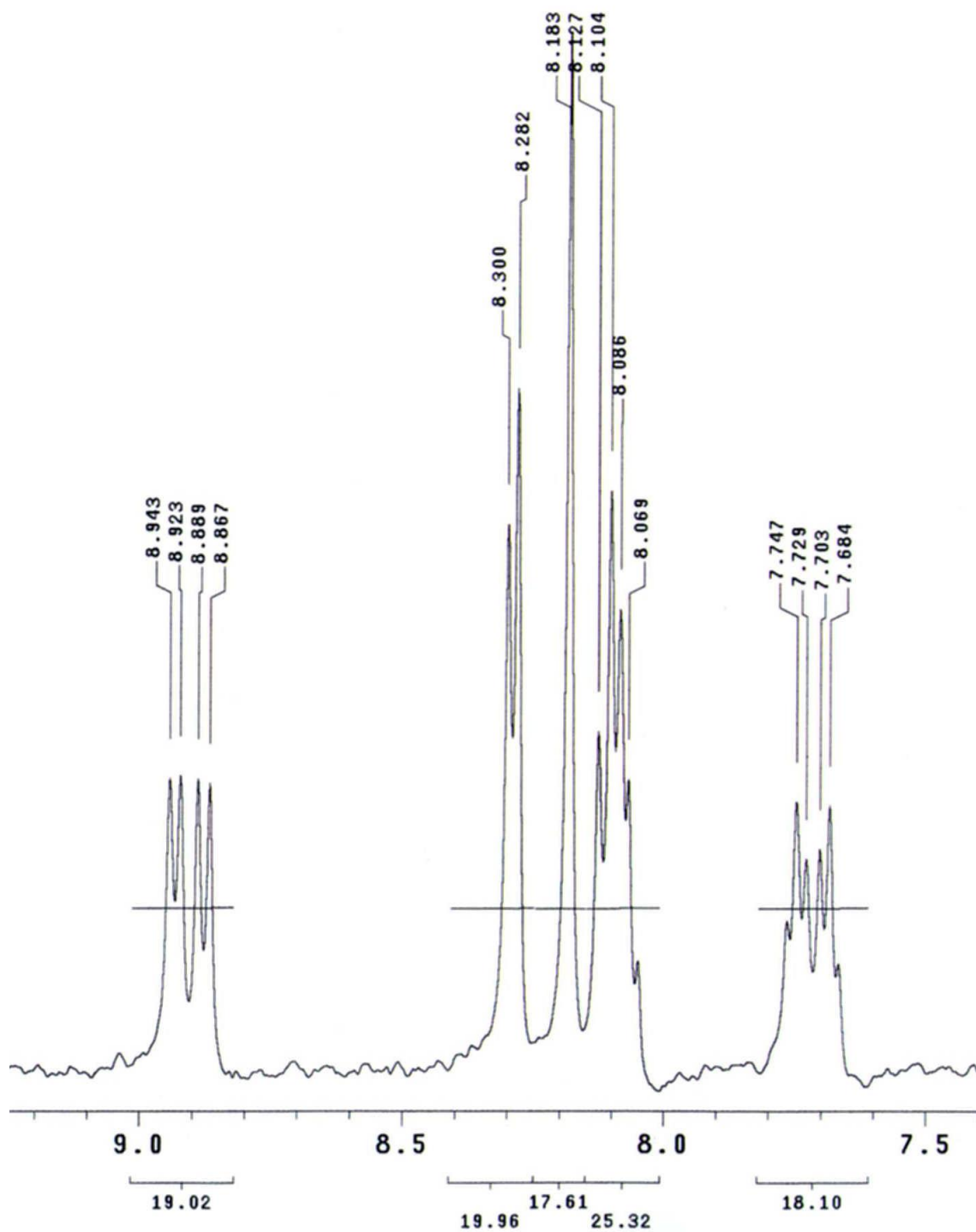
8. BAEK, S. O., FIELD, R. A., GOLDSTONE, M.E., KIRK, P. W., LESTER, J. N. & PERRY, R., *A review of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons, fate and behavior*. Water Air Soil Pollut, 60, p 279-300, 1991.
9. UNESCO. *The determination of petroleum hydrocarbons in sediments*. Paris : Intergovernmental Oceanographic Commission, 1990, Manuals and guides, 11.
10. KENNICUTT, M. C. *The effect of biodegradation on crude oil bulk and molecular composition*. Oil and Chemical Pollution, England, V 4, 1988, p 89-112.
11. SANDERS, G. et al. *Concentrations and deposition fluxes of PAH and heavy metals in the dated sediments of a rural english lake*. Environmental Toxicology and Chemistry, New York, V 12, 1993, p 1567-1581.
12. EHRHARDT, M.; PETRICK, G. *On the composition of dissolved and particle-associated fossil fuels residues in Mediterranean surface water*. Marine Chemistry, Amsterdam, V 42, 1993, p 57-70.
13. LEE, Milton Lafayette; VASSILAROS, D. L.; LATER, D. W. *Capillary column gas chromatography of environmental polycyclic aromatic compounds*. In: ALBAIGÉS, J.; FREI, Roland W.; MERIEN, E. (Ed.) Chemistry and Analysis of Hydrocarbons in the Environment. New York: Gordon and Breach Science, p 314, 1983.
14. BEDDING, N. D. et al. *Analysis of waste waters for polynuclear aromatic hydrocarbons I: method development and validation*. Journal of Chromatographic Science, Niles, n 12, p 597-615, 1988.
15. WISE, Stephan ^a et al. *Determination of PAH in coal tar standards reference material*. Analytical Chemistry, Washington, V 60, p 887-894, 1988.

16. SIM, P. G. et al. *A comparison of chromatographic/mass spectrometric techniques for the determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in marine sediments*. Biomedical and Environmental Mass Spectrometry, V 14, p 375-381, 1987.
17. SKOOG, Douglas A.; HOLLER, James S.; NIELMAN, Timothy A. *Princípio de Análises Instrumental* 5ª edição. Editora Oficial da Sociedade Brasileira de Química (Bookman), 2002.
18. TREVISAN, Marcello Garcia, *Aplicação de Métodos Quimiométricos de Ordem Superior e Fluorescência Molecular na Análise em Matrizes Biológicas*, dissertação de mestrado, LAQQA UNICAMP, p 6-14, 2003.
19. SOLOMONS T. W. G., FRYHLE C. B., *Química Orgânica*, 7ª Edição, Vol 1, São Paulo, pg , 2002.
20. MORRISON, R., BOYD, R., *Química Orgânica*, 13ª Edição, Lisboa, pg , 1996.
21. HOFFMAN, F. A., *Aplicação da Ressonância Nuclear Magnética (RNM) na Avaliação da Qualidade do Azeite de Oliva*. EDUSP, São Paulo.
22. <http://www.cetesb.sp.gov.br/emergencia/acidentes/vazamento/acidentes/acidentes.asp>
23. MORITA, T., ASSUNPÇÃO, R.M.V. *Manual de soluções, reagentes e solventes*, 2ª ed, Edgard Blucher Ltda, p 627, 1986.
24. CAI, C.P., LIANG, M., WEN, R.R. *Rapid multiresidue screening method for organophosphate pesticide in vegetables Chromatographia*, 40, 7/8, p 417-420, 1995

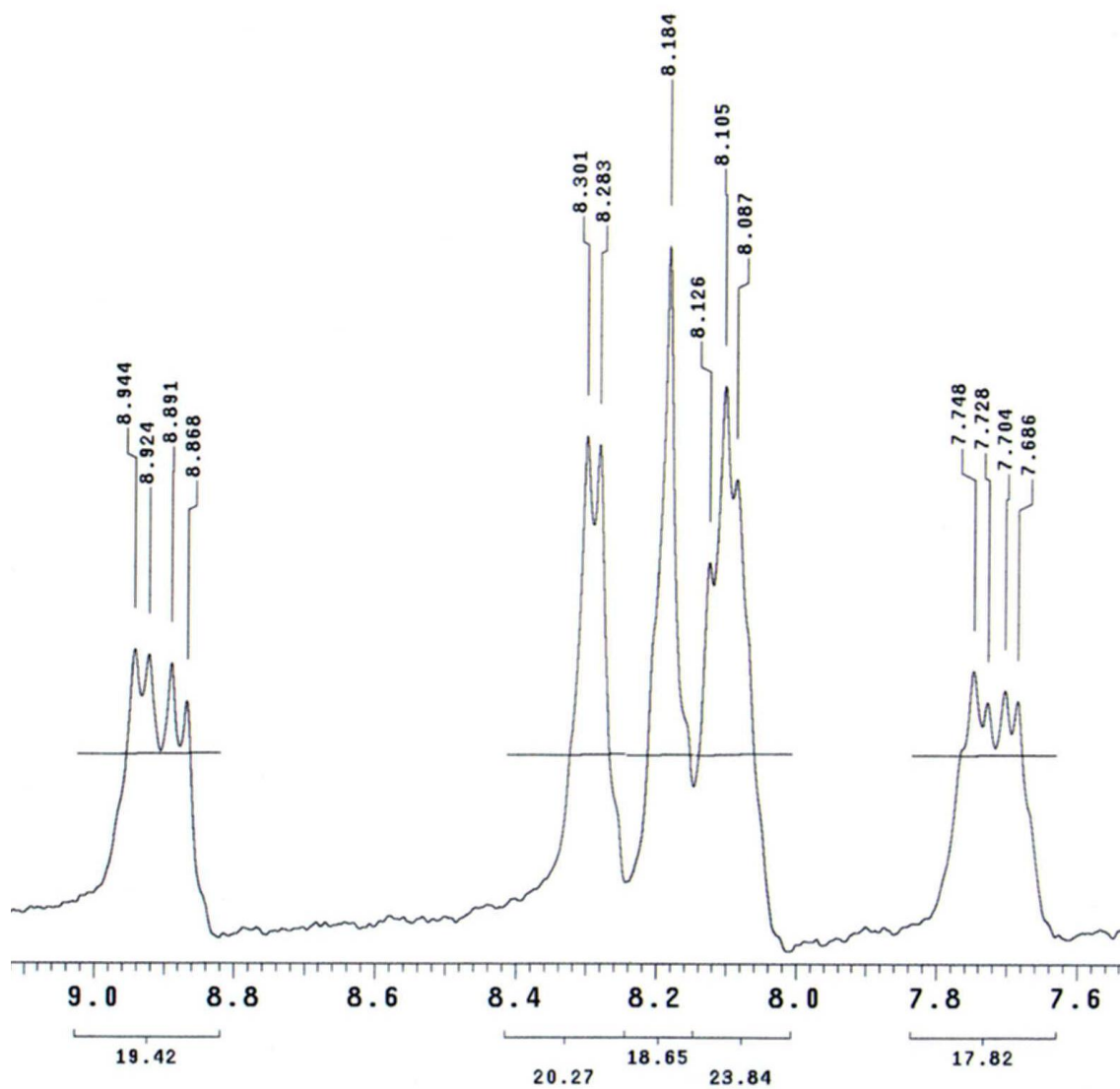
8) ANEXO



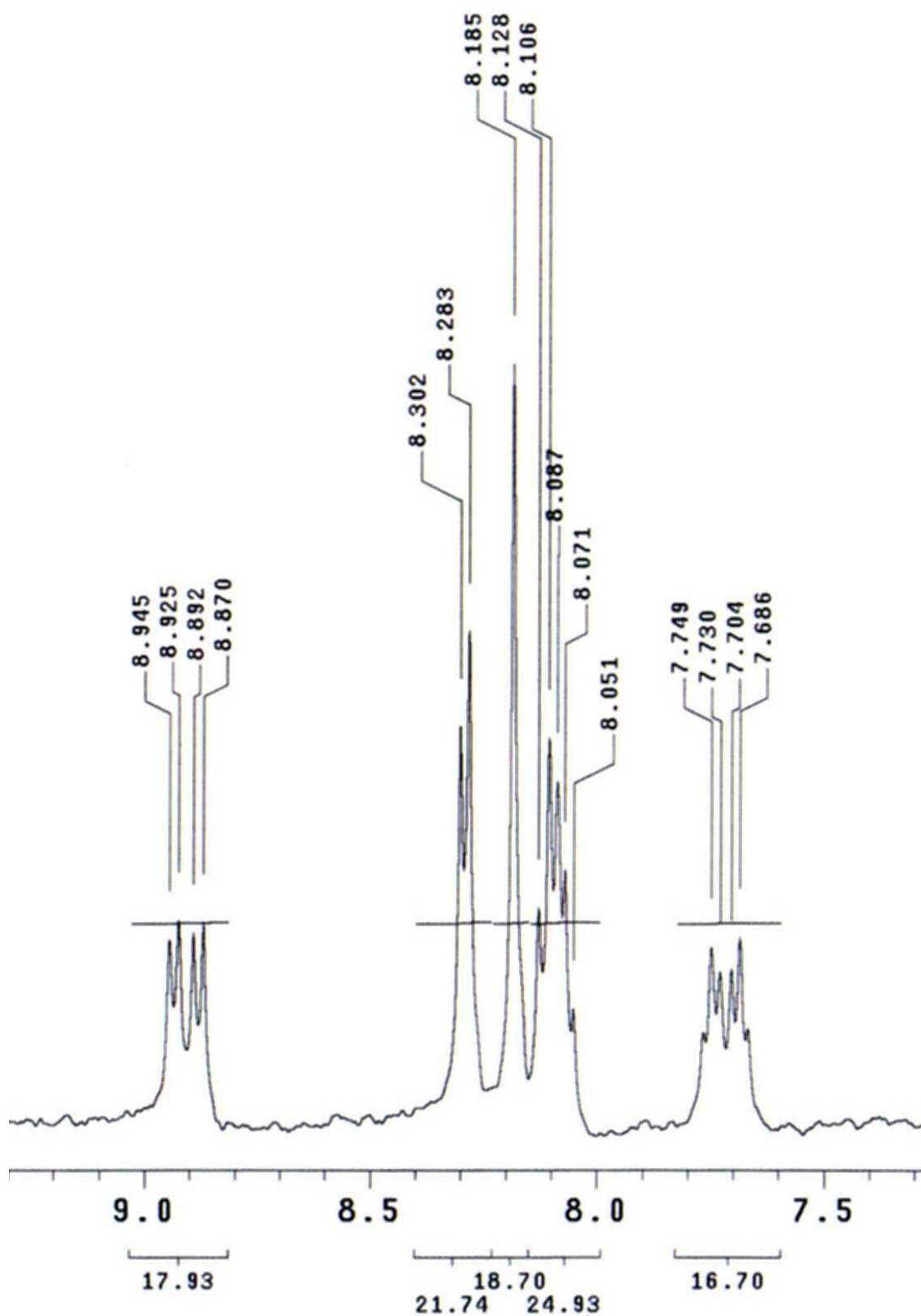
Espectro RMN de Próton – Solução 1 - (800/1200) mg L⁻¹ pireno/criseno



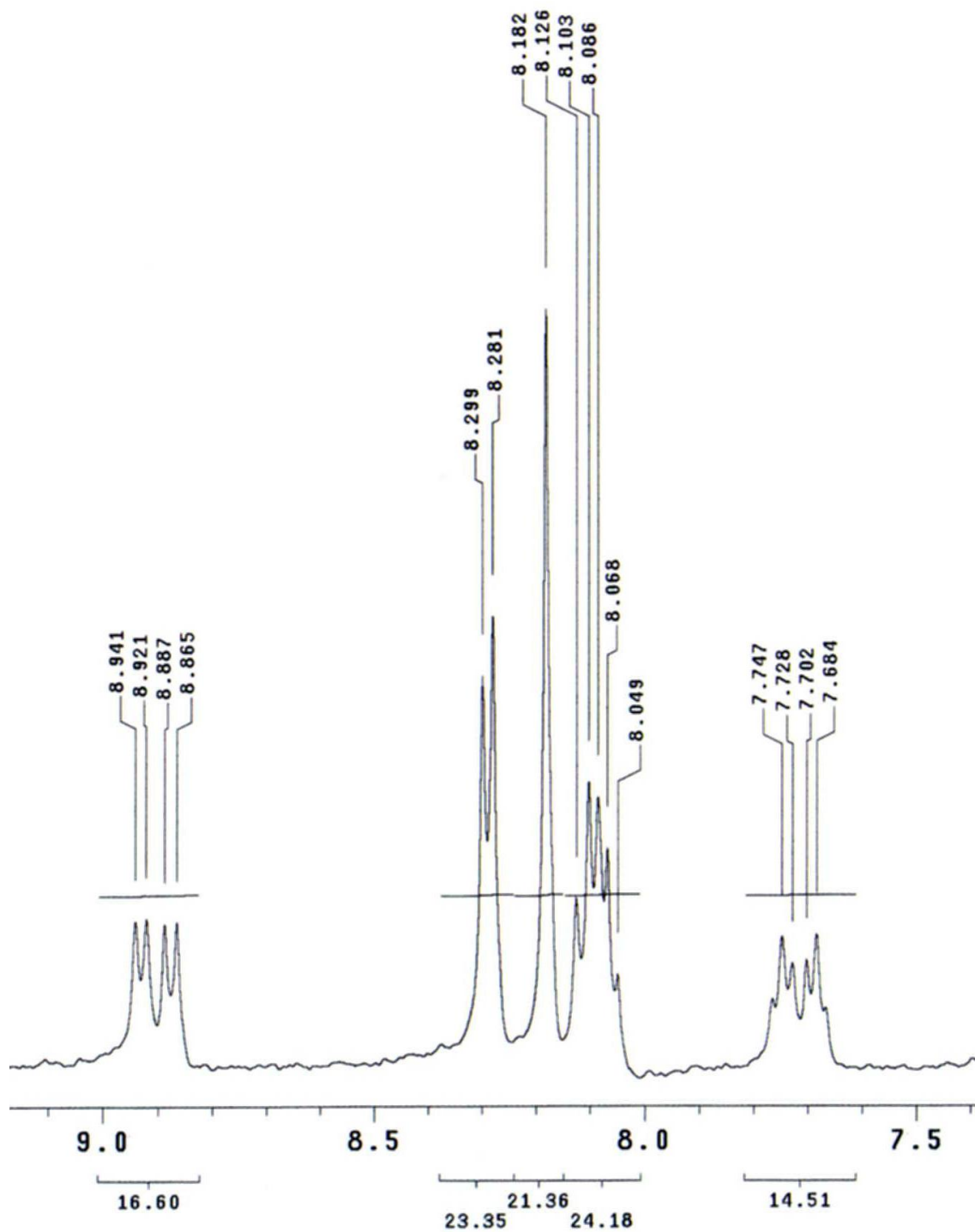
Espectro RMN de Próton – Solução 2 - (1000/1200) mg L⁻¹ pireno/criseno



Espectro RMN de Próton – Solução 3 - (1200/1200) mg L⁻¹ pireno/criseno



Espectro RMN de Próton – Solução 4 - (1400/1200) mg L^{-1} pireno/criseno



Espectro RMN de Próton – Solução 5 - (1600/1200) mg L⁻¹ pireno/criseno